

DrySpot E. Coli Serocheck Et Seroscreen

REF	DR0300M.....60 Tests
	DR0310M.....15 Tests
	DR0320M.....15 Tests
	DR0330M.....15 Tests
	DR0340M.....15 Tests
	DR0350M.....15 Tests
	DR0360M.....15 Tests

1. INTRODUCTION

Les *Escherichia coli* enterohémorragiques appartiennent à plusieurs sérotypes O. Le sérotype O157 est le plus important dans les affections humaines^{1,2,3} et ces souches sont souvent productrices de vérotoxines. Toutefois, il a été démontré qu’un grand nombre de sérotypes non O157 produisent une vérotoxine.

Les infections avec des souches produisant une vérotoxine (VT) sont associées à un grand nombre de symptômes tels que diarrhées, fièvre et vomissements allant jusqu’à des cas d’entérocolites hémorragiques (HC) et un syndrome hémolytique urémique (SHU). La transmission de ces souches se fait principalement par la consommation de nourriture contaminée. Les denrées les plus fréquemment impliquées dans les épidémies sont le fromage fabriqué à partir de lait non pasteurisé, légumes crus, bœuf haché mal cuit et viandes fermentées^{4,5}.

2. PRINCIPE

Le kit Oxoid DrySpot E. coli Serocheck et Seroscreen peut être utilisé pour la détection de 6 sérotypes non O157: O26, O91, O103, O111, O128, et O145. Ce sont les sérotypes les plus fréquemment associés avec la production de vérotoxine.

Six kits Serocheck sont disponibles, un pour chaque sérotypes non O157 mentionné ci dessus. Le kit Oxoid E. coli Seroscreen est un unique kit détectant la présence des 6 sérogroupes mentionnés ci dessus.

Les colonies à tester doivent avoir été cultivées sur gélose EHEC⁶ ou gélose MacConkey et ne doivent pas avoir l’apparence d’un *E. coli* O157. Quand il n’y a pas assez de matériel à tester, une boîte de réisolement non sélective peut être ensemencée.

3. PRINCIPE DU TEST

Le test Oxoid DrySpot E. coli Serocheck et Seroscreen utilise des particules de latex bleues sensibilisées par des anticorps et déshydratées sur des cartes. Le latex va agglutiner en présence des antigènes de la paroi cellulaire d’*E. coli* et former des agrégats visibles. Le test est un screening simple et rapide pour les sérogroupes non O157 qui peuvent produire des vérotoxines.

Les contrôles positifs et négatifs sont présentés sous la forme de spots déshydratés sur des bandelettes détachables à usage unique.

Ce test latex n’indique pas la présence ou l’absence de vérotoxine. La production de vérotoxine doit être confirmée avec le kit Oxoid VTEC- RPLA (TD0960A) ou VTEC Screen test (TD0965A).

4. COMPOSITION DU COFFRET

Chacun des kits: **DR0300M** Seroscreen, **DR0310M** Serocheck O26, **DR0320M** Serocheck O91, **DR0330M** Serocheck O103, **DR0340M** Serocheck O111, **DR0350M** Serocheck O128 et **DR0360M** Serocheck O145 contient les composants suivants:

Cartes Tests

Particules de latex bleues déshydratées et sensibilisées avec des anticorps de lapin dirigés contre le séro groupe d’*E. coli* mentionné sur la carte (zone test).

Particules de latex sensibilisées avec des globulines de lapin non réactives (zone de contrôle).

Sachets contenant des cartes tests et un sachet absorbeur d’humidité. Il y a 3 zones test et 3 zones contrôle sur chaque carte test.

Bandelettes contrôle positif (spots roses)

Extrait antigénique déshydraté et rose d’*E. coli* (séro groupe mentionné sur la carte).

Bandelettes contrôle négatif (spots verts)

Extrait antigénique desséché et vert d’*E. coli* O116.

Tampon phosphate (PBS)

pH 7.3 ±0.1. Contient 0.095% d’azide de sodium.

Bâtons mélangeurs

Clips de serrage en plastique pour fermer les sachets

Mode d’emploi

5. MATÉRIEL NÉCESSAIRE ET NON FOURNI

Oeses stériles.

Désinfectant (ex solution d’hypochlorite de sodium >1.3%).

6. PRÉCAUTIONS

Pour diagnostic *in vitro* uniquement.

7. CONSERVATION

Le kit doit être conservé entre 2 et 25°C. Si le stockage est effectué au frais, il convient de laisser revenir les sachets à température ambiante pour éviter la condensation sur les cartes. Les réactifs DrySpot sont susceptibles de donner des résultats erronés s’ils sont restés au contact de l’humidité.

Ouvrir les sachets en coupant à l’aide d’une paire de ciseaux. Prendre la quantité exacte de cartes nécessaires pour une utilisation immédiate (dans les 10 minutes) et refermer le sachet immédiatement à l’aide du clip de serrage fourni dans le kit.

Si un faible nombre de tests est nécessaire, il est possible de couper la carte le long des lignes indiquées et de remettre la portion inutilisée dans le sachet. Ne pas remettre des cartes utilisées dans le sachet à cause des possibles contaminations.

Utiliser le même protocole pour les bandelettes de contrôle afin d’éviter les dommages dus à l’humidité.

Dans ces conditions de conservation, le réactif pourra être utilisé jusqu’à la date mentionnée sur le coffret.

8. PROCÉDURES DE CONTRÔLE

Les bandelettes de contrôle fournies dans le kit doivent être utilisées de la façon suivante:

Ajouter une goutte de 50µl de PBS dans le petit cercle à la base de la zone de réaction. Détacher une bandelette de contrôle positive en prenant garde de ne pas mettre les doigts sur le spot coloré. Refermer le sachet. Tenir la bandelette de façon à ce que le spot soit tourné vers le bas et qu’il touche le liquide. Mixer par rotation pendant 10 secondes de manière à réhydrater le spot.

Continuer à utiliser la bandelette pour mixer l’ensemble dans le réactif DrySpot jusqu’à ce que tout le réactif soit réhydraté et homogène. Imprimer un mouvement de rotation et observer l’agglutination. La même procédure doit être utilisée pour le contrôle négatif.

Le contrôle **positif** doit montrer une agglutination avec le latex test dans les 60 secondes.

Le contrôle **négatif** ne doit pas montrer d’agglutination avec le latex test dans les 60 secondes.

Ne pas utiliser le kit si les résultats des contrôles sont incorrects.

9. NOTE IMPORTANTE

Ne pas toucher les cercles sur les cartes tests pour éviter des contaminations susceptibles d’altérer la réaction.

Dans un environnement humide, ne pas laisser les sachets ouverts plus de 2 minutes. Ne pas utiliser les cartes s’il y a des traces évidentes d’humidité sur les spots.

Bien que conservés à température ambiante, les sachets ne doivent pas être stockés à proximité d’une source de chaleur ou en plein soleil pour éviter une montée en température trop importante.

Ne pas mettre les gouttes de PBS directement sur les spots de latex déshydratés.

Les clips de serrage sont réutilisables pour la fermeture de plusieurs sachets.

10. PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Les colonies doivent être récupérés à partir de géloses EHEC⁷ ou MacConkey et doivent apparaître comme typiques d’*E. coli*.

Il est nécessaire de tester jusqu’à 10 colonies pour s’assurer une probabilité maximale de détection de sérotypes non O157.

Afin d’obtenir un nombre suffisant de colonies à tester avec tous les kits Serocheck, les colonies suspectes doivent être réisolées sur un milieu non sélectif.

Utiliser le latex de contrôle pour vérifier que la souche n’auto-agglutine pas.

11. MODE D’EMPLOI

1. Ajouter une goutte (50µl) du PBS dans le petit cercle (à la base de chaque ovale) à la fois dans les zones test et contrôles en s’assurant que le liquide ne se mélange pas avec les réactifs déshydratés.

2. A l’aide d’une oese stérile, prendre une colonie de 1–2mm de diamètre à partir de la boîte et les déposer sur la zone de contrôle (prendre 2 colonies ou plus si les colonies sont très petites <1mm). Emulsionner les colonies dans le PBS afin d’obtenir une suspension légèrement trouble. S’assurer

que la suspension obtenue est homogène.

3. A l’aide de l’oese, mélanger la suspension avec les spots de réactifs déshydratés jusqu’à homogénéisation complète et couvrir toute la surface de réaction. Éliminer l’oese de façon appropriée.

4. A l’aide d’une autre oese, procéder de la même façon avec le latex test.

5. Imprimer à la carte un mouvement de rotation douce jusqu’à 60 secondes et observer l’agglutination dans des conditions normales de luminosité. Ne pas utiliser de loupe grossissante.

6. Une fois le test terminé, éliminer la carte dans du désinfectant.

12. LECTURE ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Résultat positif

Un résultat est positif si une agglutination des particules de latex est observée dans les 60 secondes. Cela indique la présence du sérotype testé.

Résultat négatif

Un résultat est négatif si aucune agglutination n’est observée après 60 secondes, la suspension restant bleue homogène.

Les réactions apparaissant après 60 secondes doivent être ignorées.

Résultat ininterprétable

Le test est ininterprétable si le latex de contrôle montre une agglutination. Cela indique alors que la souche testée provoque une auto agglutination non spécifique du latex, et n’indique pas que le test est positif pour le séro groupe testé.

Réactions granuleuses ou filamenteuses

Parfois, des réactions granuleuse ou filamenteuses peuvent apparaître dues à la nature de la culture testée. Quand de telles réactions sont observées, elles doivent être interprétées de la manière suivante:

Le résultat est **positif** quand dans la zone test, il est observé un éclaircissement du fond en comparaison avec la zone de contrôle.

Le résultat est **négatif** quand il n’y a aucune différence entre la zone test et la zone contrôle.

Si la réaction est trop filamenteuse pour une correcte interprétation, il est possible de remettre une autre colonie en suspension dans 0.4ml de PBS et de retester.

13. LIMITES

Des faux positifs peuvent être trouvés avec *Edwardsiella tarda*. Cet organisme est biochimiquement similaire à *E. coli* sauf que *E. tarda* produit du sulfite d’hydrogène.

Si un résultat positif est obtenue avec une colonie d’une espèce inconnue, il convient de réaliser des tests biochimiques pour confirmation de l’espèce *E. coli*.

Le test latex E. coli Serocheck/Seroscreen ne confirme pas la production de toxine. D’autres sérogroupes non détectés par ces kits peuvent produire des vérotoxines.

14. PERFORMANCES

Les réactifs du kit Oxoid DrySpot E. coli Serocheck et Seroscreen ont été testés vis à vis du panel de microorganismes indiqué ci dessous⁸. Aucune réaction croisée n'a été observée ces germes.

<i>E. coli</i> O1	<i>E. coli</i> O168
<i>E. coli</i> O2	<i>E. coli</i> O180
<i>E. coli</i> O12	<i>Citrobacter freundii</i>
<i>E. coli</i> O14	<i>Escherichia blattoe</i>
<i>E. coli</i> O18	<i>Escherichia fergusonii</i>
<i>E. coli</i> O22	<i>Escherichia fermanii</i>
<i>E. coli</i> O36	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>E. coli</i> O48	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>E. coli</i> O62	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>E. coli</i> O74	<i>Klebsiella cloacae</i>
<i>E. coli</i> O113	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>E. coli</i> O115	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>E. coli</i> O116	<i>Providencia</i> spp.
<i>E. coli</i> O118	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>E. coli</i> O125	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>E. coli</i> O127	<i>Salmonella</i> spp.
<i>E. coli</i> O129	<i>Shigella boydii</i>
<i>E. coli</i> O135	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>E. coli</i> O157	<i>Shigella flexneri</i>
<i>E. coli</i> O158	<i>Shigella sonnei</i>
<i>E. coli</i> O160	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>E. coli</i> O166	

Une étude clinique a été réalisée au Laboratoire National de Référence des *Enterobacteriaceae*⁸ en UK. Chaque échantillon a été confirmé par sérologie. Les résultats suivants ont été obtenus:

Oxoid DrySpot E. coli Seroscreen DR300M		Serotype		
		+	–	
Gélose MacConkey	+	180	3	Sensibilité 100%
	–	0	107	Spécificité 97.3%
Gélose EHEC	+	180	3	Sensibilité 100%
	–	0	107	Spécificité 97.3%
Gélose Columbia au sang	+	180	0	Sensibilité 100%
	–	0	20	Spécificité 100%

Oxoid DrySpot E. coli Serocheck O91 DR320M		Serotype		
		+	–	
Gélose MacConkey	+	30	0	Sensibilité 100%
	–	0	169	Spécificité 100%
Gélose Columbia au sang	+	30	0	Sensibilité 100%
	–	0	169	Spécificité 100%

Oxoid DrySpot E. coli Serocheck O111 DR340M		Serotype		
		+	–	
Gélose MacConkey	+	29	0	Sensibilité 100%
	–	0	169	Spécificité 100%
Gélose Columbia au sang	+	29	0	Sensibilité 100%
	–	0	169	Spécificité 100%

Oxoid DrySpot E. coli Serocheck O103 DR330M		Serotype		
		+	–	
Gélose MacConkey	+	27	0	Sensibilité 100%
	–	0	168	Spécificité 100%
Gélose Columbia au sang	+	27	0	Sensibilité 100%
	–	0	168	Spécificité 100%

Oxoid DrySpot E. coli Serocheck O145 DR360M		Serotype		
		+	–	
Gélose MacConkey	+	22	0	Sensibilité 100%
	–	0	169	Spécificité 100%
Gélose Columbia au sang	+	22	0	Sensibilité 100%
	–	0	169	Spécificité 100%

Oxoid DrySpot E. coli Serocheck O26 DR310M		Serotype		
		+	–	
Gélose MacConkey	+	30	1	Sensibilité 100%
	–	0	168	Spécificité 99.4%
Gélose Columbia au sang	+	30	0	Sensibilité 100%
	–	0	169	Spécificité 100%

Oxoid DrySpot E. coli Serocheck O128 DR350M		Serotype		
		+	–	
Gélose MacConkey	+	30	0	Sensibilité 100%
	–	0	169	Spécificité 100%
Gélose Columbia au sang	+	30	0	Sensibilité 100%
	–	0	169	Spécificité 100%

15. REFERENCES

- Willshaw, G. A., Scotland, S. M., Smith, H. and Rowe, B. (1992). *J. Infect. Dis.* **166**: 797-802.
- Goldwater, P. N. and Bettelheim, K. A. (1998). *J. Med. Microbiol.* **47**: 1039-1045.
- Griffin, P. M. and Tauxe, R. V. (1991). *Epidem. Rev.* **13**: 60-88.
- Acheson, D. W. K. and Jaeger, J. L. (1999). *Clin. Micro. Newsletter* **21**: 183-187.
- Nataro, J. P. and Kaper, J. B. (1998). *Clin. Micro. Rev.* **11**: 142-201.
- Bettelheim, K. A. (1998). *J. Med. Microbiol.* **47**: 1037-1038.
- Beutin, L., Montenegro, M. A., Orskov, F., Proada, J., Zimmerman, S. and Stephen, R. (1989). *J. Clin. Microbiol.* **27**: 2559-2564.
- Data on file, Oxoid.

Légende des symboles

	Référence de catalogue
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Consulter le mode d’emploi
	Limite de température
	Code de lot
	A utiliser avant
	Fabricant



X6074B Mai 2013

 OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke,
Hampshire, RG24 8PW, UK